柑橘毒素病、似毒素病與速檢法之研究

The Studies on Citrus Virus and Virus-Like Diseases and Their Speed Indexing Technique

蘇 鴻 基

Su Hong-Ji

關健語：柑橘毒素病、似毒素病、速檢法

Key woods: citrus virus and virus-like diseases, disease indexing,

從1951年代新竹地區柑樹開始受立枯病爲害，隨年蔓延爲害嚴重，引起吾人注意，開始研究其病因，經病接穗嫁接之傳染試驗認定係系統性之毒素病或似毒素病。爾後經年研究證實本省各品種柑樹普遍感染下列多種病毒與擬細菌。爲推展健康苗制度以防治此類系統病，對病因病毒之鑑定與病理學研究及檢疫技術之研究係首要，概況如下。

(一)病因與病理學之研究：

(1)立枯病 (Likubin＝greening) 電顯觀察及傳染試驗證實此病起因於長桿狀 (350—550×600—1500nm) 之擬細菌 (Fastidious bacteria＝GFB)，此原核菌以出芽式繁殖。受害嚴重之品種有椪柑、桶柑、柳橙及葡萄柚；中度罹病性有檸檬；而金柑呈抗病性，病株中病菌含量低。至於原來抗病性之文旦及白柚，近10年來變爲感病而已普遍嚴重受害。推測起因於病菌系統之變異而毒性改變。本省此病菌系統 (型) 屬耐熱型，在低、高溫均適宜生長爲害柑樹。此菌往往與萎縮病毒 (CTV) 複合感染，但此菌占優勢而後者略有協力作用。根腐疫病菌有促進此病之發展加重。

(2)破葉病起因於 Citrus tatter leaf virus (CTLV)，係 650nm 長絲狀病毒，其特性及所屬病毒類別尚在研究中。此病毒可經機械傳染到白藜。經指示植物 Rusk 枳橙檢定，發現桶柑、海梨柑、椪柑及甜橙 (柳橙、雪柑、臍橙) 等較普遍感染，在葡萄柚、白柚、茂谷及溫州柑等樹中也可檢出。此病毒在本省各柑橘產地均可測到，但一般在溫度較低之北區較普遍。由於本省普遍種植抗病性之酸橘砧木，一般不呈穗砧癒合部異常病徵。改用枳殼與枳橙 (Troyer) 時此病毒嚴重使植株矮化，以無毒苗爲對照比較，兩者生長差異顯著。

(3)萎縮病起因於Citrus tristeza virus(CTV)，屬長 2000nm 絲狀病毒之 Closterovirus 。通常用 ELISA 血清法及 Mexican lime 指示植物檢定，本省各種柑株普遍受潛伏感染，尤其是椪柑、桶柑、甜橙及金柑等很普遍受感染 (90%以上)，葡萄柚及檸

* 國立臺灣大學植物病蟲害學系
Dept. of Plant Pathology and Entomology, National Taiwan University

檬株受染半數左右而文旦及白柚株很少檢到此病毒（5％以下）。人工接種試驗證實柚類實生苗接種後呈顯著病徵，但一年後就測不到病毒，推想柚類具有過敏性抗病性。但本省發現一新系統（CTV-D）却在柚類及葡萄柚呈嚴重萎縮病徵，續留於病株中。本省一般之 CTV 系統屬於苗黃系統（Seedling-yellow strain）。受染柑樹之果實呈畸形而萎縮，其中病毒含量較正常果爲高。此病毒推定對本省易感品種之產量及品質有影響，因此需選定適宜於各個別品種之交叉保護用弱毒系統，已初選對椪柑、桶柑及柳橙無毒性之弱系統，已開始對無毒化原種及健康苗做交叉保護試用中。

(4)鱗砧病起因於 Citrus exocortis viroid（CEV），爲單股之 RNA 次病毒。此次病毒經機械傳染，用指示植物 Citron 861-S 檢定結果，此病爲害分佈不廣。在甜橙（柳橙、Valencia、Jaffa）及檸檬之少數植株中檢查到。其他品種中尙未檢到。本省一般用耐病性之酸橘砧木，田間植株看不到病徵，唯上述品種之廣東檬檬砧上少數可觀察到鱗砧病徵，病株矮化衰萎。爲改進柑橘品質普遍改用枳穀、枳橙及廣東檬檬時此病可能成爲問題。

(5)其他病毒及螺旋菌質：經指示植物 Pineapple 甜橙檢定，只在 Valencia 之很少樣本中檢到 Psorosis（鱗皮病）之陽性反應。使用 Parson special mandarin 指示植物之粗皮檸檬砧苗檢查結果，本省各種品種柑株中尙未發現有 Cachexia 次病毒（木孔病）。利用培養法及血清 ELISA 法檢查 Stubborn 病菌 *Spiroplasma citri* 菌質，均得負結果。上述三種病需再進一步研究。

(二)檢疫技術改進之研究：

(1)立枯病，一般利用感病性之椪柑及桶柑實生苗做生物檢定，但潛伏期往往半年以上，很費時。Zinkom 認爲最感病性，正試驗中。利用薄切片之電顯觀察，最爲正確，但煩雜費時。爲建立簡速ELISA法，單元抗體之製備試驗已獲得分泌陽性反應抗體之融合瘤細胞株，唯細胞系不穩定，尙在改進試驗中。

(2)破葉病（CTLV）：本省柑樹此病毒普遍與 CTV 複合感染，因此不能利用Excelsa 爲指示植物，而使用枳橙 Rusk 爲宜。使用酸橘、粗檸檬或柳橙爲台木苗而上方芽接 Rusk 芽做爲指示苗時，反應最敏感，4～6星期後呈現病徵，但用枳殼或枳橙苗時不易顯出病徵而費3至6個月，甚至不現出病徵。此生物檢定必需在 22°C 低温之空調室進行，對此病毒已製成特異性之單元抗體，利用於 ELISA 檢驗正改進試驗中，因病株中病毒濃度低，一般採冬春季之成熟葉檢驗效果較好。

(3)萎縮病（CTV）：此病毒向來用多元抗體之 ELISA 法檢疫爲主，但檢定病毒系統及毒性仍使用指示植物，Mexican lime, Eureka lemon，酸橙及廣東檬檬苗。在進行交叉保護時宜製備對强弱毒性不同之病毒系統分別具有特異性之單元抗體或基因探針（c-DNA），以便追踪保護用弱系統及交叉保護效果。此試驗擬在新計畫中進行。

(4)鱗砧病（CEV），向來使用指示植物Citron 861-S來檢驗爲主，費時往往半年以上，並需在温暖環境。利用核酸之電泳法或 HPLC 法也可行，但技術細節仍需改進試驗。國外已有基因探針製成，爲建立速檢法，吾人有必要試製。

參考文獻

1. Matsumoto, T., M. C. Wang, and H. J. Su. 1961. Studies on likubin. p. 121—125. In Proc. 2nd Conf. IOCV, Univ. Florida Press, Gainesville.
2. Roistacher, C. N. 1986. Indexing and control of citrus viruses and virus-like diseases. FFTC Book Series No. 33, pp. 127—135.
3. Su, H. J. 1981. A tristeza virus strain causing dwarf of pummelo and grapefruit. Proc. Int. Soc. Citriculture. 423—426.
4. _______ and J. U. Cheon. 1984. Occurentce and distribution of tatterleaf citrange stunt complex on Taiwanese citrus. Proc. Int. Soc. Citriculture. (In press).
5. _______ J. U. Cheon, and M. J. Tsai. 1986. Citrus greening (Likubin) and some viruses and their control trials. FFTC Book Series No. 33, pp. 142—147.
6. _______ and S. C. Leu. 1972. Study on the pathogen complex causing likubin of citrus in Taiwan. 1. Nature of mycoplasma-like organism associated with the disease. Proc. National Science Council (R. O. C.) No. 5: 109—126.
7. _______ and R. Y. Wu. 1979. Preliminary study on the etiology of Wentan pummelo decline. p. 45—47. In Proc. R. O. C.-U. S. Cooperative Sci. Seminar on Mycoplasma Diseases of Plants. NSC, Symposium Series No. 1., Taiwan, R. O. C.
8. USDA-ARS. 1968. Indexing Procedures for 15 Virus Diseases of Citrus Trees. pp. 96.

Summary

The virus and virus-like diseases of citrus trees had become seriously epidemic since the first outbreak of Likubin (greening) in 1951, and called public attention in citrus industry of Taiwan. The etiological studies on the systemic virus and virus-like diseases of citus trees have been made through transmission experiments with the diseased scions and vector insects. Citrus trees of the all commercial cultivars grown on the island were proved to be commonly infected by the virus and fastidious bacteria pathogens. In order to promote the pathogen-free foundation stock and budling program for controlling the systemic diseases of citrus trees, the identification of causal viruses, their pathological studies and development of disease-indexing techniques were realized to be primarily important. The etiolngical natures and diagnostic technology of the citrus virus and virus-like diseases were briefly described.

問 題 討 論

黃美華：

請問蘇教授，目前臺灣有那幾個病毒可以用 ELISA 來檢定。

蘇鴻基：

目前 tristeza 還有 tatter leaf，大概這二種是比較穩定，還有黃龍病還不穩定，希望這個很快就可以穩定，其他的就用別的方法。